



(12)

BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2017 00997**

(22) Data de depozit: **28/11/2017**

(45) Data publicării mențiunii acordării brevetului: **29/11/2022** BOPI nr. **11/2022**

(41) Data publicării cererii:
28/06/2019 BOPI nr. **6/2019**

(73) Titular:
• **INSTITUTUL NAȚIONAL DE
CERCETARE-DEZVOLTARE PENTRU
BIOLOGIE ȘI NUTRIȚIE ANIMALĂ - IBNA
BALOTEȘTI, CALEA BUCUREȘTI NR. 1,
BALOTEȘTI, IF, RO**

(72) Inventatori:
• **CRISTE RODICA DIANA,**
*STR.VALEA IALOMIȚEI NR.2A, BL.417,
SC.D, AP.151, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B,
RO;*
• **PANAITE TATIANA DUMITRA,**
*BD. IULIU MANIU NR. 71, BL. 4, SC. 2,
AP. 56, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO;*
• **TABUC CRISTINA,**
*BD.CONSTRUCTORILOR NR.11, SC.B,
ET.4, AP.37, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B,
RO;*
• **VLAICU PETRU-ALEXANDRU,**
*STR.JOHANN SEBASTIAN BACH NR.9,
AP.1, SECTOR 2, BUCUREȘTI, B, RO;*
• **SĂRĂCILĂ MIHAELA,**
*STR.AUREL VLAICU NR.37, GIURGIU, GR,
RO;*

• **OLTEANU MARGARETA,**
*ȘOS. PANTELIMON NR. 92, BL. 211, AP. 9,
SECTOR 2, BUCUREȘTI, B, RO;*
• **TURCU RALUCA PAULA,**
*BD.IULIU MANIU NR.52-72, BL.4, SC.A,
ET.1, AP.5, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B,
RO;*
• **PAPUC CAMELIA PUIA, BD.UVERTURII
NR.87, BL.O 14 A, SC.C, ET.3, AP.61,
SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO**

(56) Documente din stadiul tehnicii:
**RO 132021 A0; RICARDA MARGARETE
ENGBERG, KAI GREVSEN, ELISE
IVARSEN, XAVIER FRETTE, LARS
PORSKJAR CHRISTENSEN, OLE
HOJBERG, BENT BORG JENSEN & NURIA
CANIBE, "THE EFFECT OF ARTEMISIA
ANNUA ON BROILER PERFORMANCE, ON
INTESTINAL MICROBIOTA AND ON THE
COURSE OF A CLOSTRIDIUM
PERFRINGENS INFECTION APPLYING A
NECROTIC ENTERITIS DISEASE MODEL",
AVIAN PATHOLOGY, VOL. 41:4,
PP. 369-376, 2012**

(54) **REȚETĂ FURAJERĂ PENTRU FAZA DE CREȘTERE A
PUIILOR DE CARNE CRESCUȚI ÎN STRES TERMIC RIDICAT**



RO 133384 B1

1 Invenția se referă la o rețetă furajeră pentru faza de creștere (14-35 zile) a puilor de carne crescuți în condiții de stres termic ridicat (32°C), având aplicații în zootehnie.

3 Una dintre cele mai mari provocări pentru producția animală în secolul XXI este și va fi, să asigure suficiente alimente sănătoase pentru populația în creștere a globului
5 pământesc. Cererea pentru alimentele de origine animală (surse de proteină) constituie o provocare pentru nutriția și producția animală. Producția de carne în UE a crescut pentru al
7 patrulea an consecutiv cu +1,7% în 2016 față de 2015. Acest lucru se datorează, în principal, creșterii semnificative a producției cărnii de pasăre (+4,4%). Prin comparație cu situația din
9 2015, în anul 2050 cererea de alimente de origine animală va crește cu 100% (FAO, 2015). Dezvoltarea industriei avicole este mai rapidă decât alte segmente ale producției din sectorul
11 zootehnic. Datele disponibile pe parcursul primului deceniu din secolul XXI indică faptul că industria producătoare de carne de pasăre a fost mai dinamică decât industria producătoare
13 de ouă.

15 În prezent, în calea dezvoltării producției de carne de pui există două mari dezavantaje legate de folosirea rețetelor furajere convenționale. În primul rând stresul termic ridicat care constituie o preocupare majoră a întregii industrii avicole deoarece provoacă pierderi
17 economice majore. Datorită performanțelor de producție ridicate precum și a eficienței în conversia hranei, puii de astăzi sunt foarte sensibili la stresul termic. În cazul puilor crescuți
19 în stres termic ridicat, furajați cu rețete convenționale, sunt afectate negativ consumul de furaje, sporurile de greutate, conversia hranei, producția de carne și echilibrul florei intes-
21 tinale. Menținerea echilibrului microflorei intestinale, în esența menținerea sănătății tradusului digestiv, constituie o condiție esențială pentru producția de carne iar folosirea rețetelor
23 furajere convenționale constituie al doilea dezavantaj cauzat de interzicerea folosirii antibioticelor ca promotori de creștere în hrana pasărilor (January 1, 2006, EC regulation No.
25 1831/20031).

27 În acest context, furajarea puilor de carne cu rețete furajere noi care să răspundă limitărilor impuse de anumite situații specifice de creștere, constituie calea naturală cu efect
29 direct în diminuarea pierderilor economice prin menținerea sănătății tractusului digestiv iar cercetările cu această tematică au devenit o prioritate în domeniul cercetării zootehnice. Interzicerea folosirii antibioticelor a apărut pe fundalul îngrijorării și preocupării consuma-
31 torilor cu privire la utilizarea acestora în hrana pasărilor, inclusiv contaminarea cu reziduuri a alimentelor obținute de la pasări și a agenților patogeni bacterieni rezistenți la antibiotice.
33 Din aceste motive, suplimentarea rațiilor cu aditivi fitogenici vegetali (plante, extracte din plante și/sau amestecuri botanice) câștigă tot mai mult teren în nutriția pasărilor.

35 În literatura de specialitate brevet **RO 132021 A0** este dezvăluit un aditiv furajer pe bază de *A. annua* varietatea germană hibrid A3, plantă utilizată pentru profilaxia coccidiozei
37 la puii de carne.

39 În cadrul a două experimente s-a demonstrat influența creșterii concentrațiilor alimentare de frunze uscate de *A. annua* (0, 5, 10 și 20 g/kg) și extract de n-hexan din frunzele proaspete de *A. annua* (0, 125, 250 și 500 mg/kg)) asupra performanțelor puilor de
41 carne ("The effect of *Artemisia annua* on broiler performance, on intestinal microbiota and on the course of a *Clostridium perfringens* infection applying a necrotic enteritis disease
43 model" Ricarda Margarete Engberg, Kai Grevsen, Elise Ivarsen, Xavier Fretté, Lars Porskjær Christensen, Ole Hojberg, Bent Borg Jensen & Nuria Canibe (2012), Avian Pathology, 41:4,
45 369-376).

47 Problema tehnică pe care o rezolvă invenția o reprezintă atenuarea efectelor adverse ale stresului termic ridicat (32°C) asupra performanțelor productive și asupra echilibrului microflorei intestinale a puilor de carne aflați în perioada de creștere (14...35 de zile).

Rețetă furajeră pentru faza de creștere a puilor de carne crescuți în stres termic ridicat (32°C) structurată pe furaje convenționale (porumb, soia), din 100 de procente: are în componență 1% pulbere obținută din planta întregă uscată de *Artemisia annua* și 0,005% ulei de *Artemisia annua*.

Față de o rețetă convențională, noua rețetă propusă pentru brevetare este suplimentată cu un amestec de fitoaditivi format din ulei și pudră de artemisia. Suplimentarea rețetelor furajere cu aditivi fitogenici, care conțin substanțe fitochimice abundente, multe cu caracter antioxidant, este o abordare fezabilă în mod satisfăcător pentru ameliorarea efectelor dăunătoare ale animalelor crescute în condiții extreme.

Avantajele pe care le prezintă invenția revendicată se referă la o rețetă furajeră care asigură echilibru microflorei intestinale și astfel are un impact semnificativ asupra performanțelor puilor (14-35 de zile) crescuți în stres termic ridicat. Rețeta conține ulei și pudră de artemisia (*Artemisia annua*), planta care are în compoziție sesquiterpenoide, flavonoide, cumarine, lipide, fenoli, purine, steroizi, triterpenoide, alifatici și artemisinin. Un alt avantaj al invenției îl constituie marja mare de siguranță la folosirea acestei plante în hrana pasărilor. Chiar și la doze orale unice și mari, artemisina are puține efecte secundare adverse la puii de carne. Artemisina este cunoscută ca având efecte antibacteriene, antifungice, antileishmanial, antioxidante, antitumorale și activitate anti-inflamatoare.

Invenția revendicată poate fi obținută la scară industrială fiind adresată producătorilor de furaje în vederea diversificării producției în condițiile asigurării de furaje, fără antibiotice, dedicate pasărilor crescute în stres termic ridicat (32°C). Prin folosirea uleiului de artemisia în combinație cu pudra obținută din planta întregă uscată, care este mai ieftină, se diminuează costurile furajului fabricat noii rețete furajere propusă pentru brevetare.

În prezent, cererea pentru alimentele de origine animală constituie o provocare pentru nutriția și producția animală care trebuie să urmărească nu numai cantitățile obținute dar și cerințele societale. Aceste cerințe se focalizează pe calitate, produs sigur, efectele asupra sănătății consumatorului, bunăstarea animalelor și protejarea mediului înconjurător (Magnin și Picot, 2015). În acest context, cercetarea și inovarea din nutriția animală sunt fundamentale în susținerea sectorului creșterii animalelor din UE și reprezintă cea mai profitabilă investiție pentru acest sector industrial (Caprarulo și colab., 2015). Performanțele de producție mai mari și eficiența conversiei hranei pentru animale, fac puii de astăzi mai sensibili decât oricând la stresul termic (Lin et al., 2006). Încălzirea globală crește frecvența, intensitatea și agravează impactul negativ al stresului termic. Și chiar animalele din mediul artificial sunt expuse diferitelor provocări, inclusiv stresului termic (Wan et al., 2017). Principala consecință a expunerii la stres termic o reprezintă reducerea consumului de hrană pentru a reduce producerea căldurii metabolice. Această reducere este de aproximativ 17% pentru o creștere a temperaturii ambiante cu 10°C (Austic, 1985). Totodată, scăderea consumului de furaje conduce la reducerea ratei de creștere (Geraert et al., 1996). Tractusul gastrointestinal este considerat unul dintre organele principal afectate de stresul termic (Song et al., 2017). O microbiotă intestinală echilibrată este necesară pentru a sprijini sănătatea și creșterea. Creșterea excesivă a agenților microbieni intestinali sau a agenților patogeni poate schimba echilibrul ecosistemului și poate compromite integritatea intestinului declanșând complicații gastro-intestinale (Helieh S. Oz., 2017). Afectarea sănătății intestinului poate influența întreaga sănătate a animalului și, prin urmare, poate modifica absorbția nutrienților și cerințele acestuia (Choct, 2009).

Deoarece folosirea antibioticelor a fost vehement condamnată de către asociațiile de consumatori, precum și de mai mulți oameni de știință, nutrețurile fără aditivi chimici sunt tot mai folosite în hrana pasărilor (Demir, 2005). Mai multe studii au scanat posibilele alternative

1 la antibiotice: folosirea probioticelor, a acizilor organici, oligozaharidelor, materialelor
simbiotice, acizilor grași cu lanț catenic scurt sau mediu, materialelor botanice sau extractelor
3 din plante, fibrelor funcționale, Cu, Zn (Maguin și Picot, 2015). Aditivii furajeri de origine
vegetală sunt plante sau derivate din plante care au efect benefic asupra producției și
5 sănătății animalelor (Perie și colab., 2010). Aditivii fitogenici care conțin fenoli și flavonoizi
pot îmbunătăți rezistența puilor la stresul termic (Song et al., 2017). În ultimele decenii,
7 folosirea aditivilor fitogenici sau a aditivilor pe bază de plante în alimentația păsărilor, a
câștigat o mare atenție ca posibile alternative pentru antibioticele utilizate ca promotori de
9 creștere și care au fost interzise în hrana animalelor de către Uniunea Europeană în 2006
(Cherian et al., 2013). Cercetările pentru noi antioxidanți bio-eficienți s-au concentrat în mod
11 special asupra antioxidanților naturali pentru a respecta preocupările consumatorilor cu
privire la siguranță și toxicitate (Brenes et al., 2010).

13 Rațiile suplimentate cu aditivi fitogenici, care conțin substanțe fitochimice abundente
pot fi utilizate ca promotori de creștere și antioxidanți și reprezintă o abordare fezabilă, pentru
15 ameliorarea efectelor dăunătoare asupra animalelor crescute în condiții dificile (Akbarian și
colab., 2016). Fitoaditivii sunt compuși bioactivi benefici pentru procesul de creștere și pentru
17 sănătate (Tuorkey, 2015). Se consideră că în special compușii fenolici și flavonoidele din
plante sunt principalii compuși cu rol antioxidant (Shahidi et al., 1992, Pietta 2000). Interesul
19 nutrițional pentru compușii polifenolici a crescut foarte mult în lumina activității lor antioxi-
dante (Scalbert și Williamson, 2000).

21 Printre fitoaditivii studiați ca alterantivă naturală la folosirea antibioticelor se numără
și *Artemisia annua*. Această plantă a fost folosită ca un medicament popular pentru
23 tratamentul unui număr mare de boli. O varietate de compuși au fost extrași din *Artemisia
annua* L., cum ar fi sesquiterpenoide, flavonoide, cumarine, lipide, fenoli, purine, steroizi,
25 triterpenoide, compuși alifatici și artemisinin (Bhakuni et al., 2001). Remarcabil, printre cei
32 de polifenoli caracterizați în diferite părți ale țesutului vegetal, inclusiv flori, frunze, tulpini
27 și rădăcini, 10 compuși au fost detectați (Song et al., 2016). *Artemisia annua* este o plantă
aromatică anuală aparținând familiei *Asteraceae*. Frunzele uscate de *A. annua* au fost
29 folosite din vechi timpuri în medicina orientală (Cherian, 2013). Plantele aparținând familiei
Asteraceae au fost utilizate la păsări de curte și la rumegătoarele mici ca agenți anticoccidici
31 și antiparazitari (Allen et al., 1997; Brisibe et al., 2008; Ferreira, 2009).

Principalul component al *Artemisiei annua* este artemisinin care are efecte antibac-
33 teriene, antifungice, antileishmaniale, antioxidante, antitumorale și activitate anti-inflamatoare
(Efferth et al, 2006; Konkimalla et al, 2008; Ferreira et al, 2010). Cavar și colab., (2012) au
35 demonstrat ca uleiul esențial de *A. annua* posedă activitate antifungică și antimicrobiană iar
Yang et al., (2009) au demonstrat ca *A. annua* are un conținut bogat în polifenoli, ceea ce
37 îi conferă o puternică activitate antioxidantă. Mai mulți autori scot în evidență acțiunea de
coccidiostatic al frunzelor uscate de *Artemisia* (de Almeida et al., 2012 ; Khalaji et al., 2011)
39 și a extractelor din această plantă (Arab et al., 2006).

Wan et al., (2016) au investigat efectele preparatului enzimatic de *Artemisia annua*
41 în concentrații de 0,0, 0,5, 1,0 și 1,5 g/kg, în hrana broilerilor asupra performanței de
creștere, calității cărnii și asupra stabilității oxidative a pieptului și a pulpei. Pe parcursul
43 experimentului (42 zile) puii din toate loturile au avut spor mediu zilnic, consum mediu zilnic
și rata de conversie a hranei similare între loturi. Aceeași autori Wan et al., (2017) au
45 demarat un experiment pe broileri crescuți în condiții de stres termic ($34 \pm 1^\circ\text{C}$, 8 h/zi și
 $22 \pm 1^\circ\text{C}$, 16 h/zi), pentru a investiga efectele preparatului enzimatic de *Artemisia annua*
47 prezent în dietă asupra performanțelor de creștere și a parametrilor sanguini. Concluzia lor
a fost ca suplimentarea dietei cu 0,75-1,25 g/kg preaparat enzymatic de *A. annua* a înlăturat

RO 133384 B1

efectele negative ale stresului termic asupra broilerilor (Wan et al., 2017). Engberg și colab., (2012) și Gholamrezaie și colab., (2013), au folosit pulbere de frunze uscate și separat, extract de <i>Artemisia annua</i> în dietele administrate puilor. Engberg și colab., (2012) au observat că introducerea a 10 și 20 g/kg frunze de <i>Artemisia annua</i> în dieta broilerilor Ross 308 (1-35 zile) tinde să reducă consumul zilnic și să îmbunătățească consumul specific. Gholamrezaie și colab., (2013) au demonstrat că adaosul de pulbere din frunze sau de extract de <i>Artemisia annua</i> în dieta broilerilor Cobb 500 (1-42 zile) scade consumul mediu zilnic, consumul specific și crește sporul mediu zilnic.	1 3 5 7
Există însă puține studii privind efectele folosirii fitoaditivilor vegetali în hrana broilerilor care cresc în condiții de stres termic și cu atât mai puțin folosirea simultană a uleiului și pulberii obținută din planta întregă uscată de <i>Artemisia annua</i> . În acest context s-a realizat un studiu privind efectele folosirii unei noi rețete furajere cu ulei și pulbere de <i>Artemisia annua</i> pentru furajarea puilor broileri (14-35 zile), crescuți în stres termic ridicat (32°C).	9 11 13
Rețeta furajeră pentru faza de creștere a puilor de carne crescuți în stres termic ridicat propusă pentru brevetare, a fost elaborată ținând cont de următoarele:	15
- cerințele nutriționale - pe baza cerințelor nutriționale (NRC, 1994) și a recomandărilor producătorului hibridului COBB 500 pe care s-a organizat testarea experimentală;	17
- cerințele specifice fazei de creștere a puilor (14-35 zile);	19
- s-a realizat estimarea unor parametri preliminari privind: greutatea, consumul mediu zilnic; consumul specific.	21
Rețeta furajeră pentru faza de creștere a puilor de carne crescuți în stres termic ridicat, este structurată pe furaje convenționale (porumb, șrot soia) și a inclus în mod particular ca fitoaditivi furajeri:	23
- pulbere obținută din planta întregă uscată de <i>Artemisia annua</i> recoltată la maturitate deplină în Livezeni, Târgu-Mureș (46.55°N, 24.63°E). Pentru a obține pulberea de <i>A. Annua</i> , plantele au fost uscate timp de 3 săptămâni la întuneric la temperatura ambientală de 20°C și apoi măcinate fin. Această pulbere a fost caracterizată printr-un conținut ridicat de proteine (18,24%) și fibre (27,61%). În ceea ce privește conținutul în substanțe volatile, planta de <i>Artemisia annua</i> deține concentrații semnificative de: camfor, camfen, α -pirene, eucalyptol, artemisia ketone;	25 27 29 31
- ulei de <i>Artemisia annua</i> achiziționat de la compania Jiangxu Xuesong Natural Medicinal Oil Co Ltd., China. Conținutul în substanțe volatile determinate în acest ulei a arătat că este bogat în artemisia ketone, camphor, eucalyptol, compuși care contribuie la activitatea antioxidantă a acestuia. Acesta conține în plus față de plantă, numeroși compuși printre care cei mai importanți sunt: α -terpinene, yomogi alcohol, artemisia alcohol, α -terpinolene, trans-pinocarveol, terpinen-4-ol, α -terpineol, estragol, α -copaene, β -caryophyllene, γ -muurolene, α -selinene. Juteau și colab., (2002) au arătat că uleiul de <i>Artemisia annua</i> are capacitate antioxidantă echivalentă cu 18% din cea a α -tocopherol-ului. Determinarea indicilor de degradare ai grăsimii din ulei au certificat calitatea necesară acestuia pentru introducerea în furaje.	33 35 37 39 41
<i>Folosirea noii rețete furajere într-un experiment desfășurat pe puii de carne în faza de creștere (14-35 zile), crescuți în stress termic ridicat (32 °C)</i>	43 45
Experimentul s-a efectuat timp de 21 zile pe 60 pui din hibridul Cobb 500 (vârsta 14 zile). La 14 zile, puii au fost împărțiți în 2 loturi (30 pui/lot). Pe parcursul experimentului temperatura în hala experimentală s-a menținut la 32°C, umiditatea la 36%, lumina 23 h/24 h.	47

RO 133384 B1

1 În hală ventilația/cap/animal a fost de 0,38% și emisia de CO₂ de 899 ppm, fiind sub valoarea
maximă stabilită prin *Norma sanitară veterinară privind stabilirea normelor minime de*
3 *protecție* a puilor destinați producției de aprobată prin Ordinul ANSVSA nr. 30/2010.

La demararea experimentului s-a întocmit un protocol experimental care a fost
5 aprobat de către Comisia de etică din IBNA Balotești înființată prin decizia nr. 52/30.07.2014
și care funcționează pe lângă Consiliul de Administrație și Consiliul Științific al IBNA.
7 Fitoaditivii vegetali folosiți în structura noii rețete furajere propuse pentru brevetare au fost
caracterizate din punct de vedere chimic (tabelele 1, 2, 3) pentru a evalua calitatea lor de
9 aditivi furajeri.

Date privind compoziția chimică a pulberii de *Artemisia annua*

Tabelul 1

Specificație	Valoare
Energia metabolizabilă (kcal/kg)	1511,39
Substanță uscată (%)	88,30
Proteină brută (%)	18,24
Grăsime (%)	3,04
Celuloză (%)	27,61
Cenușă (%)	8,90
Aminoacizi (%)	
Acid aspartic	1,77
Acid glutamic	1,74
Serina	0,74
Glicina	0,79
Treonina	1,26
Arginina	1,02
Alanina	0,97
Tirozina	0,53
Valina	0,89
Fenilalanina	0,78
Izoleucina	0,70
Leucina	1,32
Lizina	0,93
Cistina	0,129
Metionina	0,166
Minerale	
Ca (%)	0,58
P (%)	0,38
Cu (mg/kg)	17,50
Mn (mg/kg)	76,30
Zn (mg/kg)	24,32
Na (mg/kg)	0,007
K (mg/kg)	2,64

RO 133384 B1

Datele din tabelul 1 arată un conținut ridicat de proteine (18,24%) și fibre (27,61%) pentru pulberea de *Artemisia annua*. În ceea ce privește conținutul în substanțe volatile, planta de *Artemisia annua* deține cantități mai ridicate de camfor, camfen, α -pirene, eucaliptol decât uleiul esențial (tabelul 2).

Compuși volatili identificați în uleiul esențial și în planta de Artemisia annua

Tabelul 2

Compus	Număr CAS	Ulei esențial (%)	Planta (%)
α -Pinen	80-56-8	2,83	11,95
Camfen	79-92-5	2,88	22,52
Sabinenă	3387-41-5	3,49	0,88
β -Pinene	127-91-3	2,56	3,55
Yomogi alcool	30458-12-9	0,85	
α -Terpinene	99-86-5	0,15	
p-Cymene	99-87-6	0,13	3,07
Eucaliptol	470-82-6	18,62	9,28
Artemisia ketone	546-49-6	18,20	133
trans-Sabinene hidrat	17699-16-0	0,20	0,53
Artemisia alcool	9402894	1,25	
α -Terpinolene	586-62-9	0,12	
trans-Pinocarveol	547-61-5	0,14	
Camfor	76-22-2	11,74	46,21
Verbenone	80-57-9	0,22	
Borneol	507-70-7	1,22	0,68
Terpinen-4-ol	562-74-3	0,98	
α -Terpineol	98-55-5	0,77	
Myrtenol	564-94-3	0,28	
Estragol	140-67-0	3,69	
Timol	89-83-8	0,21	
Eugenol	97-53-0	0,13	
α -Copaene	3856-25-5	1,50	
β -caryophyllene	87-44-5	5,79	
β -cis-Caryophyllene	118-65-0	1,17	
Humulene	6753-98-6	0,36	
γ -Gurjunene	22567-17-5	0,54	
Germacrene D	23986-74-5	0,48	

RO 13384 B1

Tabelul 2 (continuare)

Compus	Număr CAS	Ulei esențial (%)	Planta (%)
γ-Muurolene	30021-74-0	8,37	
α-Selinene	473-13-2	9,51	
α-Muurolene	31983-22-9	0,65	
δ-Cadinene	483-76-1	0,44	
Spathulenol	6750-60-3	0,32	
Oxid de cariofilen	1139-30-6	0,23	

*determinări realizate, pe bază de contract la Facultatea de Chimie, Universitatea București

Din ulei au fost determinați indicii de degradare ai grăsimii (tabelul 3) iar rezultatele obținute arată că valorile sunt în parametrii admiși pentru includerea în furaje.

Indicii de degradare ai grăsimii din uleiul de *Artemisia annua*

Tabelul 3

Specificație	Valoare
Indicele peroxid (mL tiosulfat 0,01 N/1 g grăsime)	1,18
Aciditatea grăsimii, (mg KOH)	12,68
Reacția Kreiss	Negativă
Limite maxime admise conform STAS 12266-84-metoda volumetrică: indice de peroxid maximum 1,2 mL tiosulfat 0,01 N/1 g grăsime; aciditatea grăsimii MAX 50 mg KOH; reacția Kreiss - negativă	

După caracterizarea materiilor prime, pe baza rezultatelor obținute în concordanță cu cerințele nutriționale (NRC, 1994) și cerințele nutriționale ale hibridului Cobb 500, au fost elaborate rețetele furajere. Puii din lotul martor au primit un nutreț combinat convențional, bazat pe porumb și șrot soia (tabelul 4). Noua rețetă furajeră experimentată pentru lotul Ea inclus 0,005% ulei și 1% pulbere de *Artemisia annua* (tabelul 4). Apa și furajul au fost administrate *ad libitum*.

La fiecare șarjă de furaj fabricată, pentru fiecare lot, s-au prelevat probe din care s-au făcut determinări privind compoziția chimică primară, determinări bacteriologice și micologice (NTG, *coliformi totali*, *E. coli*, *Salmonella spp*, NTF).

Structura rețetelor furajere

Tabelul 4

Ingrediente	Faza de creștere (14-35 zile)	
	M	E
	%	
Porumb	62	62
Șrot soia	26,58	26,58
Ulei de <i>Artemisia annua</i>	-	0,005
Pulbere de <i>Artemisia annua</i>	-	1

Tabelul 4 (continuare)

Ingrediente	Faza de creștere (14-35 zile)	
	M	E
	%	
Ulei vegetal	2,5	2,5
Lizina	0,47	0,48
Metionina	0,26	0,26
Colina	0,05	0,05
Carbonat de calciu	1,4	1,4
Fosfat monocalcic	1,36	1,36
Sare	0,37	0,37
Premix vitamino-mineral	1	1
Total	100	100
1 kg premix vitamino-mineral conține: = 1100000 IU/kg vit. A; 200000 IU/kg vit. D3; 2700 IU/kg vit. E; 300 mg/kg Vit. K; 200 mg/kg Vit. B1; 400 mg/kg Vit. B2; 1485 mg/kg acid pantotenic; 2700 mg/kg acid nicotinic; 300 mg/kg Vit. B6; 4 mg/kg Vit. B7; 100 mg/kg Vit. B9; 1,8 mg/kg Vit. B12; 2000 mg/kg Vit. C; 8000 mg/kg mangan; 8000 mg/kg fier; 500 mg/kg cupru; 6000 mg/kg zinc; 37 mg/kg cobalt; 152 mg/kg iod; 18 mg/kg seleniu		

Rezultatele determinărilor privind compoziția chimică primară a celor două nutrețuri denotă că acestea au fost echilibrate din punct de vedere energo-proteic (tabelul 5). În stabilirea concentrației în nutrienți (substanța uscată, proteina, grăsime, celuloza, cenușa) s-au utilizat metodele standardizate conform Regulamentului (CE) nr. 152/2009 privind controlul calității furajelor.

Compoziția chimică primară a rețetelor furajere

Tabelul 5

Specificație	Rețeta M	Rețeta E
Energia metabolizabilă, kcal/kg	3140,03	3140,03
Substanță uscată, %	88,43	87,94
Proteina brută, %	22,72	22,32
Grăsimea, %	4,68	4,98
Celuloza, %	3,85	4,03
Cenușa, %	5,85	6,63

În tabelul 6 sunt rezultatele analizelor bacteriologice și micologice efectuate pe nutrețurile combinate administrate celor două loturi (M, E). Determinarea NTG Col/g s-a efectuat conform standardului SR 13178-1; Coliformi totali/g conform SR 13178-2; *E. Coli*/g conform SR 13178-2; *Salmonella* Col/g conform SR EN 12824; NTF Col/g conform STAS 6953-81.

RO 133384 B1

Analiza bacteriologică și micologică a nutrețurilor combinate

Tabelul 6

Specificație	NTG Col/g SR 13178-1	Coliformi totali/g SR 13178-2	<i>E.coli</i> /g SR 13178-2	<i>Salmonella</i> Col/g SREN 12824	NTF Col/g STAS 6953- 81
Rețeta lotului M (14-35 zile)	34,5 x 10 ⁴	0,8	0	Absent	-
Rețeta lotului E (14-35 zile)	39 x 10 ⁴	1,6	0,9	Absent	3500
Limite maxime admise: (MO 362 bis/2003): NTG: maxim 15 x 10 ⁶ col/g; coliformi totali: maximum 3000 col/g; <i>E.coli</i> : maximum 100 col/g; <i>Salmonella sp.</i> : 0 col/g; NTF: maximum 5 x 10 ⁴ col/g. Unde: SR = Standard românesc; STAS = Standarde de stat; SR EN = Standarde europene.					

Valorile rețetei propuse pentru brevetare se încadrează în limitele maxime admise, reglementate de Monitorul Oficial al României 362/ 2003. În toate loturile de furaje, *Salmonella spp.* a fost absentă (tabelul 6).

Rezultate obținute în experiment privind performanțele de producție.

Pe parcursul perioadei experimentale s-au monitorizat următorii parametri: greutatea corporală (g); consumul mediu zilnic (g furaj/pui/zi); sporul mediu zilnic (g/pui/zi); consumul specific (g furaj/g spor). Mortalitatea a fost înregistrată pe parcursul întregii perioade experimentale.

Efectul utilizării *Artemisia annua* (ulei și pulbere) în dieta broilerilor (14-35 zile) asupra performanțelor de creștere

Tabelul 7

Lot Performanță	Perioada	M	E	SEM	Valoarea lui p
Greutate corporală (g/pui)	14 zile	318,96	304,97	6,773	0,307
	21 zile	789,26	844,88	16,63	0,095
	28 zile	1107,75	1225,50	31,6	0,061
	35 zile	1523,05	1680,26	49,6	0,114
Consum mediu zilnic (g/pui/zi)	14-21 zile	78,37 ^a	86,05 ^b	1,344	0,0034
	21-28 zile	83,86	89,78	2,57	0,253
	28-35 zile	90,18 ^a	105,82 ^b	4,27	0,066
	14-35 zile	84,13 ^a	93,88 ^b	1,78	0,006
Spor mediu zilnic (g/pui/zi)	14-21 zile	52,25 ^a	59,99 ^b	1,88	0,038
	21-28 zile	47,84	54,37	3,4	0,344
	28-35 zile	59,56	63,98	4,19	0,605
	14-35 zile	53,09	59,37	1,19	0,099

Tabelul 7 (continuare)

Lot Performanță	Perioada	M	E	SEM	Valoarea lui p
Consum specific (g furaj/g spor)	14-21 zile	1,45	1,41	0,04	0,669
	21-28 zile	1,68	1,77	0,10	0,52
	28-35 zile	1,65	1,72	0,13	0,794
	14-35 zile	1,78	1,63	0,06	0,199

Unde: litere diferite în același rand= diferite semnificative; SEM= eroarea standard a mediei

La 21, 28, 35 zile greutatea corporală a puilor hrăniți cu rețeta propusă pentru brevetare a fost mai mare decât cea a puilor hrăniți cu rețeta convențională (tabelul 7). La 21 zile greutatea lotului E a fost mai mare cu 7,04%, la 28 zile cu 10,63%, iar la 35 zile cu 10,3% față de lotul martor. Față de greutatea corporală din ghidul de creștere a hibridului Cobb 500, greutatea finală a puilor a fost mai mică cu 43,85% (lotul M) și cu 30,39% (lotul E). Pe parcursul perioadei experimentale (14-35 zile), puii hrăniți cu rețeta propusă pentru brevetare (mix de ulei și pulbere de *A. annua*) au avut un consum mediu zilnic semnificativ ($p < 0,05$) mai mare față de cei hrăniți cu dieta convențională. Față de datele din ghidul de creștere a hibridului Cobb 500, puii de la lotul M au avut un consum mediu zilnic (14-35 zile) cu 52,74% mai mic, iar puii de la lotul E cu 36,87% mai mic.

Sporul mediu zilnic la 14 zile a fost semnificativ ($p < 0,05$) mai mare la E față de lotul M (tabelul 7) și în celelalte perioade sporul mediu zilnic a fost mai mare la puii hrăniți cu rețeta propusă pentru brevetare, însă nu a fost asigurat statistic. Broilerii care au inclus în dietă ulei și pulbere de *A. annua* au avut consum specific (tabelul 7), mai mic decât cei hrăniți cu dieta convențională.

La 35 de zile, conform protocolului de lucru aprobat, au fost sacrificați 5 pui/lot. Întregul intestin a fost prelevat, iar conținutul intestinal (duoden, jejun, ileon) și cecal a fost golit în tuburi de plastic în vederea examinării bacteriologice (*Enterobacteriaceae*, *E. coli*, *Lactobacilli*, *Stafilococci*, *Salmonella spp.*).

Efectul adaosului de Artemisia annua (ulei și pulbere) în dieta broilerilor (14-35 zile) asupra compoziției microbiotei intestinale (log 10 UFC/g conținut intestinal)

Tabelul 8

Specificație	M	E	SEM	Valoarea lui p
<i>Enterobacteriaceae</i> , lg 10	7,27 ^b	7,22 ^a	0,008	< 0,0001
<i>E. coli</i> , lg 10	5,88 ^b	5,83 ^a	0,01	3
Stafilococci, lg 10	5,60 ^b	5,53 ^a	0,012	< 0,0001
Lactobacilli, lg 10	6,41 ^a	7,00 ^c	0,098	< 0,0001
<i>Salmonella spp.</i>	Absent	Absent	-	-

Unde: unități formatoare de colonii; litere diferite în același rand= diferite semnificative; SEM = eroarea standard a mediei

Numărul de bacterii patogene, respectiv, *Enterobacteriaceae*, *E. coli* și stafilococi a fost semnificativ ($P < 0,05$) mai mic în conținutul intestinal al puilor de la lotul E (rețeta propusă pentru brevetare) comparativ cu lotul martor (tabelul 8). Numărul de lactobacilli din

RO 133384 B1

1 conținutul intestinal al puilor din lotul experimental a fost semnificativ ($P < 0,05$) mai mare
3 comparativ cu lotul M, fapt ce demonstrează că utilizarea *A. annua* în dieta puilor favorizează
multiplicarea bacteriilor benefice pentru menținerea echilibrului florei intestinale (tabelul 8).

5 *Efectul adaosului de Artemisia annua (ulei și pulbere) în dieta broilerilor (14-35 zile)*
7 *asupra compoziției microbiotei cecale (log 10 UFC*/g conținut cecal)*

Tabelul 9

Specificație	M	E	SEM	Valoarea lui p
Enterobacteriaceae, lg 10	11,02 ^b	10,98 ^a	0,007	19
<i>E. coli</i> , lg 10	9,93 ^c	9,84 ^a	0,015	< 0,0001
Stafilococi, lg 10	8,65 ^b	8,54 ^a	0,018	< 0,0001
Lactobacilli, lg 10	11,45 ^a	12,27 ^b	0,135	< 0,0001
<i>Salmonella spp.</i>	Absent	Absent	-	-

15 Unde: unități formatoare de colonii; litere diferite în același rand = diferențe semnificative;
17 SEM = eroarea standard a mediei

19 În ceea ce privește analiza microbiologică a conținutului cecal, putem observa în
tabelul 9 că rețeta propusă pentru brevetare (care a inclus ulei și pulbere de *A. annua*)
administrată puilor a determinat reducerea semnificativă ($P < 0,05$) a numărului de unități
21 formatoare de colonii de bacterii patogene în cecum (*Enterobacteriaceae*, *E. coli*,
Stafilococi). Totodată, numărul de lactobacilli a fost semnificativ ($P < 0,05$) mai mare în
23 conținutul cecal al puilor de la lotul experimental față de cei de la lotul martor (tabelul 8).
Acest rezultat demonstrează că utilizarea rețetei propuse pentru brevetare are ca și
25 consecință menținerea sănătății tractului digestiv al puilor, pe de-o parte prin inhibarea
multiplicării bacteriilor patogene, iar pe de altă parte prin efectul prebiotic (multiplicarea
27 bacteriilor lactice, benefice pentru asigurarea echilibrului dintre speciile bacteriene din
intestin). În toate probele de conținut, *Salmonella spp.* a fost absentă.

RO 133384 B1

Revendicări

1

1. Rețetă furajeră pentru faza de creștere a puilor de carne crescuți în stres termic ridicat, structurată pe furaje convenționale, **caracterizată prin aceea că**, din 100 de procente are în componență 1% pulbere obținută din planta întreagă uscată de *Artemisia annua* și 0,005% ulei de *Artemisia annua*.

3

5

2. Rețetă furajeră conform revendicării 1 caracterizată prin: 87,94% substanță uscată; 22,32% proteină brută; 4,98% grăsime brută; 4,03% celuloză; 6,63% cenușă; 3140,03 kcal/kg energie metabolizabilă.

7

9



Editare și tehnoredactare computerizată - OSIM
Tipărit la Oficiul de Stat pentru Invenții și Mărci
sub comanda nr. 491/2022